

ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КОМПЛЕКСОВ НАНОЧАСТИЦ МАГНЕТИТА, ОКСИДА КРЕМНИЯ И МОЛИБДЕНА С ГУМИНОВЫМИ КИСЛОТАМИ В ТЕСТЕ *TRITICUM AESTIVUM* И *HORDEUM VULGARE*

А.М. Короткова, И.А. Гавриш, Л.В. Галактионова

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр биологических систем и агротехнологий Российской академии наук», Оренбург, Россия, anastasiaporv@mail.ru

Аннотация. Хотя некоторые авторы уже оценили влияние ряда нанометаллов в присутствии гуминовых кислот на микроорганизмы, водоросли, рыб, последствия взаимодействия между гуминовыми кислотами и растительными организмами по-прежнему остаются не вполне ясными. В работе мы исследовали морфо-физиологические изменения двух видов *Triticum aestivum* и *Hordeum vulgare* при воздействии коммерческих гуминовых кислот с нанодисперсными частицами металлов (Fe_3O_4 , Mo, SiO_2). Улучшение прорастания семян обоих видов растений (*Triticum aestivum* и *Hordeum vulgare*) отмечалось после обработки 10^{-4} мг/л НЧ SiO_2 – на 14% и 20%, соответственно. Напротив, уменьшение прорастания зафиксировано после воздействия 5×10^{-2} мг/л Fe_3O_4 – на 13% в случае с *Triticum aestivum* и на 32% (к контролю) для растений *Hordeum vulgare*. В целом растения *Hordeum vulgare* были менее чувствительны к воздействию НЧ Mo и Fe_3O_4 в отличие от *Triticum aestivum*. Наблюдали увеличение массы корней *Triticum aestivum* по сравнению с растениями после обработки гуминовыми кислотами при воздействии 10^{-4} мг/л SiO_2 , 10^{-3} мг/л Mo и 10^{-2} мг/л Fe_3O_4 . Вероятно, стимулирующий эффект нано-кремнезема SiO_2 в разведении 10^{-4} мг/л обусловлен обогащением наночастиц рядом разветвленных функциональных групп гуминовых и фульвовых кислот, содержащихся в препарате биогумуса.

Ключевые слова: наночастицы, магнетит, оксид кремния, молибден, гуминовые кислоты

DOI: 10.31255/978-5-94797-319-8-1059-1062

Введение. Типичные коллоидные дисперсии наночастиц металлов (НЧМ) могут включать металлические частицы, свободные ионы металлов (включая любые растворимые комплексы) и поверхностно-адсорбированные ионы металлов, оказывающих значительное влияние на биораспределение и количество биодоступного металла [Liu, Hurt, 2010]. Свободные ионы металлов имеют сильную тенденцию связываться с отрицательно заряженными ионами для достижения устойчивого состояния. В природной воде можно найти пять анионных неорганических связующих, а именно F^- , Cl^- , SO_4^{2-} , OH^- и CO_3^{2-} . НЧ металлов и/или высвобожденные ионы металлов также могут сильно связываться с гуминовыми веществами, такими как гуминовые кислоты (ГК), которые считаются доминирующими комплексообразователями в природной воде [Luoma, 2008]. Поэтому ГК играют важную роль в транспорте, стабильности, растворении, биодоступности и осаждении ксенобиотиков в организмах [Gao et al., 2012].

Хотя некоторые авторы уже оценили влияние ряда нанометаллов в присутствии ГК на микроорганизмы [Gunsolus et al., 2015], водоросли [Akhil, Khan, 2017], рыб [Ong et al., 2017], последствия взаимодействия между ГК и растительными организмами по-прежнему остаются не вполне ясными. Встречаются единичные работы по оценке степени снижения фитотоксичности НЧМ в комплексе с ГК на примере Ag [Li et al., 2018], но не было исследований по увеличению в подобных условиях стимулирующих свойств НЧМ. Стоит учесть, что физико-химические характеристики каждого типа этих материалов и условия эксперимента могут вызывать различные биологические реакции у различных видов растений.

В этом контексте целью исследования послужило расширение существующих знаний о механизмах воздействия различных комбинаций коммерческих ГК с нанодисперсными частицами металлов (Fe_3O_4 , Mo, SiO_2) на растительные организмы, используя с позиции морфо-физиологических изменений двух видов *Triticum aestivum* и *Hordéum vulgäre*.

Материалы и методы. В исследованиях использовали НЧ SiO_2 (размером 25-30 нм), Mo (100-120 нм), произведенные в компании «Плазмотерм» (Россия, г. Москва), а также НЧ Fe_3O_4 (80-100 нм) производства «Передовые порошковые технологии» (Россия, г. Томск). Для приготовления растворов НЧМ брали точные навески препаратов, помещали в стеклянные колбы с отстоянной водопроводной водой и интенсивно диспергировали ультразвуком с частотой 35 кГц в течение 30 мин.

Растворы НЧМ заданной концентрации служили растворителем концентрированного препарата биогумус «Биоэра-Пенза» (Россия, г. Пенза). Разведение раствора биогумуса осуществляли согласно инструкции препарата (далее по тексту рабочий раствор БГ). Далее данной смесью (НЧМ+БГ) проводили предпосевную обработку семян пшеницы (*Triticum aestivum*) сорта «Учитель» и ячменя (*Hordéum vulgäre*) сорта «Оренбургский 4» путем предварительного замачивания на 10-15 мин в растворах БГ с разной концентрацией НЧМ. Контролем служили семена без предварительной обработки. Общая схема обработки растений представлена в таблице 1.

Таблица 1.

Схема эксперимента на растениях *Triticum aestivum* и *Hordéum vulgäre*

Вариант обработки растений		
Контроль – дистиллированная вода		
БГ+НЧ SiO_2		
$2 \cdot 10^{-3}$ мг/л	10^{-3} мг/л	10^{-4} мг/л
БГ+НЧ Fe_3O_4		
$2 \cdot 10^{-3}$ мг/л	10^{-3} мг/л	10^{-4} мг/л
БГ+НЧ Mo		
$5 \cdot 10^{-2}$ мг/л	10^{-2} мг/л	10^{-3} мг/л

Проращивание проводили на стерильной чашке Петри с увлажненным стерильным бинтом, куда раскладывали равномерно семена, обрабатывали смесью НЧМ+БГ, чашки прикрывали и помещали в термостат с постоянной температурой (+26 °C). Подсчет нормально проросших семян проводили ежедневно, энергию прорастания семян подсчитывали через 3 суток, а всхожесть и ростовые параметры на 7 сутки. Повторность 3-6 кратная, в каждую чашку Петри помещали по 10 семян культуры.

Результаты и их обсуждение. Результаты подсчета энергии прорастания семян *Triticum aestivum* и *Hordéum vulgäre* показали различную чувствительность как к виду НЧМ, так и их концентрациям. Достоверное (по сравнению с контролем) улучшение прорастания семян обоих видов растений (*Triticum aestivum* и *Hordéum vulgäre*) отмечалось после обработки минимальной концентрацией 10^{-4} мг/л НЧ SiO_2 – на 14% и 20%, соответственно (табл. 2).

Напротив, уменьшение прорастания зафиксировано после воздействия $5 \cdot 10^{-2}$ мг/л Fe_3O_4 – на 13% (по сравнению с контролем) – в случае с *Triticum aestivum* и на 32% (к контролю) и на 50% (относительно растений после обработки БГ) – для растений *Hordéum vulgäre*.

В целом остается отметить, что растения *Hordéum vulgäre* были менее чувствительны к воздействию НЧ Mo и Fe_3O_4 , в отличие от *Triticum aestivum*. Это объясняется различием в пораженности семян по сравнению с растениями,

обработанными БГ. Так, показатель для *Triticum aestivum* доходил до 50%, что на 32% выше значений *Hordéum vulgáre* (до 34% к растениям после обработки БГ).

Что касается биомассы растений, то стоит отметить достоверное увеличение массы корней *Triticum aestivum* по сравнению с растениями после обработки БГ при воздействии 10^{-4} мг/л SiO_2 (%), 10^{-3} мг/л Mo (%) и 10^{-2} мг/л Fe_3O_4 (%). Одновременно с этим для растений *Hordéum vulgáre* зарегистрировано повышение массы корня в случае с 10^{-2} мг/л Fe_3O_4 – до 70% (по сравнению с контрольными растениями и теми, что обработаны БГ).

Вероятно, стимулирующий эффект нано-кремнезема SiO_2 в разведении 10^{-4} мг/л обусловлен обогащением НЧМ рядом разветвленных функциональных групп ГК и ФК, содержащихся в препарате БГ. Эти особенности строения, вероятно, обуславливают высокую протекторную функцию ГК и аддитивный эффект с проявлениями НЧМ [Gunsolus et al., 2015]. Более этого, отдельно НЧ SiO_2 не токсичны для растений [Slomberg and Schoenfisch, 2012]. Не исключена также седиментация золей на поверхности корней растений, имеющих низкую биодоступность [Judy et al., 2012], и соответственно токсичность. В последней работе Asgari с коллегами [2018] НЧ SiO_2 агрегировали на клеточных стенках корней и листьев растений. Напротив, действие Fe_3O_4 , вероятно, обусловлено эффектами выделяемых из металлов ионов, проникающих в растения с более высокой скоростью и проявление негативных последствий подобного воздействия.

Таблица 2.

Влияние смеси НЧМ и БГ на показатели прорастания семян *Triticum aestivum* и *Hordéum vulgáre*

Концентрации НЧМ, мг/л		<i>Triticum aestivum</i>			<i>Hordéum vulgáre</i>		
		Е	Всх.	Пораж.	Е	Всх.	Пораж.
Н ₂ O		86,7±3,3	76,7±3,3	15,3±2,89	53,3±16,7	56,7±17,6	55,2±12,1
БГ		73,3±12,0	76,7±8,8	26,7±8,82	60,3±5,77	63,3±3,33	62,4±2,35
БГ+Fe ₃ O ₄	5·10 ⁻²	76,7±3,3 ^a	76,7±3,6	10,0±5,7 ^b	46,7±6,6 ^{a b}	60,5±10	45,3±1,9 ^{a b}
	10 ⁻²	80,0±11,5	80,0±11,5	19,0±0,58 ^a	60,3±5,6	66,7±3,3	54,3±4,1
	10 ⁻³	80,0±5,7	83,3±3,3	23,3±3,3 ^a	40,3±11,5 ^{a b}	46,7±13,3 ^{a b}	49,6±5,7 ^b
БГ+SiO ₂	2·10 ⁻³	83,3±3,3	78,3±0,8	21,7±9,3 ^a	47,4±2,4	55,3±5,5	56,9±4,6
	10 ⁻³	83,3±12,0	80,0±5,7	33,3±17,6 ^a	43,3±3,3 ^{a b}	60,3±10,4	56,7±8,8
	10 ⁻⁴	99,0±0,6 ^b	90,0±8,1 ^{a b}	27,0±1,1 ^a	70,6±1,3	70,4±5,7 ^a	36,7±8,8 ^{a b}
БГ+Mo	2·10 ⁻³	88,7±0,8	76,7±8,8	13,3±8,8 ^b	60,1±4,7	69,7±6,7	50,2±5,1
	10 ⁻³	86,7±3,3	84,7±2,3	28,7±0,8 ^a	60,5±11,5 ^a	73,3±8,8 ^a	46,7±6,6 ^b
	10 ⁻⁴	85,7±3,5	83,3±6,6	16,7±3,3 ^{a b}	46,7±8,8 ^b	63,3±3,3	43,5±7,9 ^b

Примечание: Е – энергия прорастания семян, %; Всх. – всхожесть, %; Пораж. – степень пораженности, %; достоверные значения: а (сравнение с водой) и b (сравнение с БГ).

Исходя из полученных результатов, можно заключить, что растения *Triticum aestivum* и *Hordéum vulgáre* по-разному реагируют на внесение в среду комплекса нанометаллов с БГ, демонстрируя увеличение чувствительности к наночастицам металлов в ряду: $\text{SiO}_2 \rightarrow \text{Mo} \rightarrow \text{Fe}_3\text{O}_4$. Несмотря на неоднозначные результаты взаимного влияния нанодисперсных металлов с компонентами БГ на растения, остается много вопросов, требующих детализации метаболических реакций на молекулярном и клеточном уровнях организации.

Благодарности. Авторы выражают искреннюю благодарность за финансовую поддержку Российскому Фонду Фундаментальных Исследований (Проект РФФИ № 18-316-00116) и за предоставление инструментальной базы Федеральному научному центру биологических систем и агротехнологий РАН (г. Оренбург).

Литература

- Akhil K., Khan S.S. Effect of humic acid on the toxicity of bare and capped ZnO nanoparticles on bacteria, algal and crustacean systems // Journal of Photochemistry and Photobiology, B: Biology. – 2017. – V. 167. – P. 136–149.
- Asgari F., Majd A., Jonoubi P., Najafi F. Effects of silicon nanoparticles on molecular, chemical, structural and ultrastructural characteristics of oat (*Avena sativa* L.) // Plant Physiology and Biochemistry. – 2018. – V. 127. – P. 152–160.
- Gao J., K. Powers, Y. Wang, H. Zhou, S.M. Roberts, B.M. Moudgil, B. Koopman, D.S. Barber. Influence of Suwannee river humic acid on particle properties and toxicity of silver nanoparticles // Chemosphere. – 2012. – V. 89. – P. 96–101.
- Gunsolus I.L., Mousavi M.P.S., Hussein K., Bühlmann P., Haynes C.L. Effects of humic and fulvic acids on silver nanoparticle stability, dissolution, and toxicity // Environmental Science and Technology. – 2015. – No. 49. – P. 8078–8086.
- Judy J.D., Unrine J.M., Rao W., Wirick S., Bertsch P.M. Bioavailability of gold nanomaterials to plants: importance of particle size and surface coating // Environmental Science and Technology. – 2012. – V. 46. – P. 8467–8474.
- Li M., Dang F., Fu Q.-L., Zhou D.-M., Yin B. Effects of molecular weight-fractionated natural organic matter on the phytoavailability of silver nanoparticles // Environmental Science: Nano. – 2018. – No. 5. – P. 969–979.
- Liu J., Hurt R. Ion release kinetics and particle persistence in aqueous nano-silver colloids. Environmental Science and Technology. – 2010. – V. 44. – P. 2169–2175.
- Luoma S.N. Silver nanotechnologies and the environment // The Project on Emerging Nanotechnologies Report. – 2008. – V. 15.
- Ong K.J., Felix L.C., Boyle D., Ede J.D., Ma G., Veinot J.G.C., Goss G.G. Humic acid ameliorates nanoparticle-induced developmental toxicity in zebrafish // Environmental Science: Nano. – 2017. – V. 4, No. 1. – P. 127–137.
- Slomberg D.L., Schoenfisch M.H. Silica nanoparticle phytotoxicity to *Arabidopsis thaliana* // Environmental science & technology. – 2012. – V. 46, No. 18. – P. 10247–10254.

EVALUATION OF BIOLOGICAL ACTIVITY OF COMPLEXES OF MAGNETITE NANOPARTICLES, SILICON AND MOLYBDENUM OXIDE WITH HUMINIC ACIDS IN THE *TRITIMUM AESTIVUM* AND *HORDÉUM VULGÁRE* TEST

A.M. Korotkova, I.A. Gavrish, L.V. Galaktionova

Federal State Budget Scientific Institution All-Russian Research Institute of Beef Cattle, Orenburg, Russia, anastasiaporv@mail.ru

Abstract. Although some authors have already estimated the influence of a number of nanometals in the presence of humic acids on microorganisms, algae, fish, the effects of interaction between humic acids and plant organisms are still not completely clear. In the work we investigated the morpho-physiological changes of the two species *Triticum aestivum* and *Hordéum vulgare* under the influence of commercial humic acids with nanodispersed metal particles (Fe_3O_4 , Mo, SiO_2). Improvement of germination of seeds of both plant species (*Triticum aestivum* and *Hordéum vulgare*) was noted after treatment with 10^{-4} mg/l NP SiO_2 – by 14% and 20%, respectively. In contrast, the decrease in germination was recorded after exposure to 5×10^{-2} mg/l of Fe_3O_4 – 13% in the case of *Triticum aestivum* and 32% (to control) for *Hordéum vulgare* plants. In general, *Hordéum vulgare* plants were less sensitive to the effects of Mo and Fe_3O_4 , in contrast to *Triticum aestivum*. Increase in the mass of roots of *Triticum aestivum* was observed in comparison with plants after treatment with humic acids when exposed to 10^{-4} mg/l SiO_2 , 10^{-3} mg/l Mo and 10^{-2} mg/l Fe_3O_4 . Probably, stimulating effect of nano-silica SiO_2 in the dilution of 10^{-4} mg/l is due to the enrichment of nanoparticles by a number of branched functional groups of humic and fulvic acids contained in the biohumus preparation.

Keywords: nanoparticles, magnetite, silicon oxide, molybdenum, humic acids